

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE
DE LA
DIPHTÉRIE
ÉTUDE CRITIQUE
PAR LA RECHERCHE DE LA VIRULENCE
THÈSE

présentée et soutenue publiquement le jeudi 29 janvier 1914
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles-Émile JACQUOT

PRÉPARATEUR D'HYGIÈNE ET DE BACTÉRIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE (1911-1914)
ATTACHÉ AU SERVICE DÉPARTEMENTAL D'ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES DEPUIS SA CRÉATION (1910-1914)
ANCIEN PRÉPARATEUR DE L'INSTITUT SÉROTHÉRAPIQUE DE L'EST (1907-1911)
ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX (1910-1913)
LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
PRIX D'ANATOMIE ET D'HISTOLOGIE (MENTION TRÈS HONORABLE) 1907
PRIX DE L'INTERNAT (PRIX BÉNIT) 1912
PRIX HEYDENREICH-V. PARISOT (1912)

Né à Saint-Nicolas-de-Port le 17 décembre 1884

EXAMINATEURS DE LA THÈSE : { MM. MACÉ, professeur, *Président*.
HAUSHALTER, professeur, {
RICHON, agrégé, { *Juges*
J. PARISOT, agrégé, }

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical

♦♦♦

NANCY
IMPRIMERIE BERGER-LEVRAULT
18, RUE DES GLACIS, 18

1914

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE
DE LA
DIPHTÉRIE
—
ÉTUDE CRITIQUE
PAR LA RECHERCHE DE LA VIRULENCE
—
THÈSE

présentée et soutenue publiquement le jeudi 29 janvier 1914
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles-Émile JACQUOT

PRÉPARATEUR D'HYGIÈNE ET DE BACTÉRIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE (1911-1914)
ATTACHÉ AU SERVICE DÉPARTEMENTAL D'ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES DEPUIS SA CRÉATION (1910-1914)
ANCIEN PRÉPARATEUR DE L'INSTITUT SÉROTHÉRAPIQUE DE L'EST (1907-1911)
ANCIEN INTERNE DES HOPITAUX (1910-1913)
LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
PRIX D'ANATOMIE ET D'HISTOLOGIE (MENTION TRÈS HONORABLE) 1907
PRIX DE L'INTERNAT (PRIX BÉNIT) 1912
PRIX HEYDENREICH-V. PARISOT (1912)

Né à Saint-Nicolas-de-Port le 17 décembre 1884

EXAMINATEURS DE LA THÈSE : { MM. MACÉ, professeur, *Président*.
HAUSHALTER, professeur,
RICHON, agrégé,
J. PARISOT, agrégé, } *Juges.*

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical

NANCY

IMPRIMERIE BERGER-LEVRAULT

18, RUE DES GLACIS, 18

1914



FACULTÉ DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

Doyen : M. MEYER *, I U.

Assesseur : M. WEISS *, I U.

Doyen honoraire : M. GROSS O *, I U.

Professeurs honoraires : MM. BEAUNIS *, I U ; NICOLAS I U ; PRENANT *, I U ;
BERNHEIM O *, I U.

Professeurs :

Clinique chirurgicale.	M. GROSS O *, I U, professeur.
Physique médicale.	M. CHARPENTIER *, I U, professeur.
Médecine opératoire.	M. CHRÉTIEN I U, professeur.
Clinique chirurgicale.	M. WEISS *, I U, professeur.
Chimie médicale et Toxicologie.	M. GARNIER I U, professeur.
Clinique médicale.	M. P. SPILLMANN *, I U, professeur.
Clinique obstétricale et Accouchements	M. A. HERRGOTT *, I U, professeur.
Hygiène.	M. MACÉ I U, professeur.
Physiologie.	M. MEYER *, I U, professeur.
Clinique médicale.	M. SIMON I U.
Histoire naturelle médicale.	M. VUILLEMIN I U, professeur.
Clinique ophtalmologique.	M. ROHMER I U, professeur.
Médecine légale.	M. P. PARISOT *, I U, professeur.
Clinique des maladies des enfants.	M. HAUSHALTER I U, professeur.
Histologie.	M. BOUIN I U, professeur.
Anatomie descriptive.	M. ANCEL I U, professeur.
Anatomie pathologique.	M. HOCHÉ I U, professeur.
Pathologie générale et Pathologie interne	M. ÉTIENNE I U, professeur.

Professeurs adjoints :

Clinique d'électrothérapie	M. GUILLOZ *, I U, professeur adjoint.
Pathologie externe.	M. VAUTRIN I U, professeur adjoint.

Chargés de cours complémentaires :

Clinique des maladies des vieillards.	M. RICHON I U, agrégé.
Clinique des maladies syphilitiques et cutanées.	M. L. SPILLMANN I U, agrégé libre.
Accouchements.	M. FRÜHNHOLZ I U, agrégé.
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie.	M. FRÉLICH I U, agrégé libre.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.	M. JACQUES I U, agrégé libre.
Clinique des voies urinaires.	M. ANDRÉ I U, agrégé libre.
Clinique des maladies mentales.	M. PARIS I U.
Médecine opératoire.	M. MICHEL I U, agrégé libre.
Thérapeutique et Matière médicale.	M. ZILGIEN I U, agrégé libre.
Clinique médicale élémentaire (1)	M. ZILGIEN I U, agrégé libre.
Clinique chirurgicale élémentaire (1)	M. MICHEL I U, agrégé libre.
Clinique des maladies tuberculeuses (1)	M. PERRIN A U, agrégé.
Clinique des maladies tuberculeuses (1)	M. J. PARISOT A U, agrégé.

Agrégés en exercice :

MM. GUILLOZ *, I U.
LAMBERT I U.
RICHON A U.
G. GROSS I U.
FRÜHNHOLZ I U.
COLLIN A U.

MM. DUFOUR I U.
SENCERT A U.
ROBERT I U.
BUSQUET I U.
LUCIEN A U.

MM. BINET A U.
PERRIN A U.
THIRY I U.
FAIRISE A U.
J. PARISOT A U.

AGRÉGÉS LIBRES : MM. REMY A U ; FÉVRIER O *, I U ; ZILGIEN I U ; FRÉLICH I U ;
JACQUES I U ; ANDRÉ I U ; MICHEL I U ; L. SPILLMANN I U.

M. H. COIFFARD, I U, secrétaire.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

(1) Fondation de l'Université.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MACÉ

PROFESSEUR D'HYGIÈNE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DIRECTEUR DE L'INSTITUT SÉROTHÉRAPIQUE DE L'EST
MEMBRE DU CONSEIL SUPÉRIEUR D'HYGIÈNE DE FRANCE

Avec l'instruction professionnelle
vous m'avez, cher et vénéré Maître,
tant donné de votre temps et de vos
conseils, qu'en vous dédiant ce tra-
vail, je n'accomplis plus, du fond du
cœur, qu'un acte de juste et filiale
reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

DU MÊME AUTEUR

Étude bactériologique de méningites d'origine otique (en collaboration avec M. le professeur Jacques). *Revue Médicale de l'Est*, 1911 ; *Congrès de Laryngologie*, 1911.

A propos d'un cas de « Tétanos de Rose » (en collaboration avec M. Caussade). *Revue Médicale de l'Est*, 1^{er} août 1912.

Un cas de Syringomyélie (en collaboration avec M. Caussade). *Revue Médicale de l'Est*, 1^{er} juillet 1912.

Spina Ventosa costal (en collaboration avec M. le professeur agrégé G. Gross). *Province Médicale*, 23 novembre 1912, et *Revue Médicale de l'Est*, 15 juin 1912.

Fausse membranes trachéo-bronchiques (Présentation par M. le professeur Haushalter). *Revue Médicale de l'Est*, 1^{er} mai 1912.

Phagocytose du Bacille de Koch dans le liquide céphalo-rachidien (en collaboration avec M. Hanns). *C. R. Société de Biologie de Nancy*, 13 janvier 1913.

Colite ulcéreuse due à un parasite flagellé : le *Lambliia intestinalis* (en collaboration avec M. le professeur agrégé Fairise). *Archives des Maladies de l'appareil digestif et de la nutrition*, juin 1913.

Recherches sur les kystes rétropéritonéaux d'origine wolffienne; kyste wolffien du mésocolon descendant (en collaboration avec M. le professeur agrégé Fairise). *Revue de Chirurgie abdominale et de Gynécologie*, n° 6, juin 1913.

Étude bactériologique d'un cas de méningite tuberculeuse et méningococcique. *Revue de Pédiatrie*, novembre 1912.

Cinq cas de méningite cérébrospinale épidémique (en collaboration avec M. le professeur Simon). *Revue Médicale de l'Est*, 15 juillet 1913 et 15 octobre 1913.

Quelques causes de la mort dans la méningite cérébrospinale (en collaboration avec M. le professeur Simon). *Revue Médicale de l'Est*, 1^{er} octobre 1913.

Un cas de leucémie lymphatique (en collaboration avec M. le professeur Simon). *Revue Médicale de l'Est*, 1^{er} octobre 1913.

Méningite subaiguë à Bacille de Pfeiffer à la suite d'une paralysie spinale infantile (en collaboration avec M. le professeur Haushalter). *Archives de Médecine des enfants*, 11 novembre 1913.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE
DE LA
DIPHTÉRIE
ÉTUDE CRITIQUE
PAR LA RECHERCHE DE LA VIRULENCE

INTRODUCTION

Lœffler (1) signale, dès 1887, dans les fausses membranes diphtériques, l'existence de bacilles présentant la plupart des caractères du *bacille diphtérique* sans en avoir la virulence; il les désigne sous le nom de *pseudodiphtériques*, en raison de leur ressemblance avec le microbe spécifique.

Von Hoffmann-Wellenhoff (2) retrouve ces mêmes types 26 fois dans la gorge de 45 personnes, n'ayant pas la diphtérie, qu'il a examinées à ce point de vue; Roux et Yersin (3) les observent 26 fois sur 59 enfants de l'école d'un village où, depuis longtemps, ne s'était montré aucun cas de diphtérie.

(1) LÖEFLER, Untersuchungen über Diphteriebacillen (*Centralbl. f. Bakt.*, II, 1887, p. 105).

(2) VON HOFFMANN-WELLENHOFF, Untersuchungen über den Klebs-Löfflerschen Bacillus (*Wiener med. Wochenschr.*, 1888, p. 65).

(3) ROUX et YERSIN, Contribution à l'étude de la diphtérie; 3^e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 409).

Depuis 1890, les travaux de nombreux auteurs (1) sont venus confirmer la présence fréquente de ces bacilles dans la gorge des personnes saines, au point qu'on pourrait estimer à 1/5^e environ les personnes en portant dans leurs voies aériennes supérieures.

Comme ces *bacilles pseudodiphtériques* présentent des caractères morphologiques identiques à ceux du Bacille de Loeffler, comme ils se développent bien sur sérum coagulé, qui est le milieu électif couramment employé dans les laboratoires pour l'isolement et la diagnose du bacille diphtérique, un problème troublant se pose au bactériologiste : ne peut-il risquer de prendre ces microbes banaux et paraissant bien inoffensifs pour le bacille spécifique dont ils ne sont en quelque sorte que l'image ? Dans quelle proportion interviennent-ils alors dans les analyses d'exsudats d'angine pour lesquelles on est appelé à conclure à la présence de Bacille de Loeffler, alors qu'il ne s'agirait que de Bacille pseudodiphtérique ?

Cette question, d'une extrême importance théorique et pratique, s'est posée à l'époque encore peu lointaine où fut établie la spécificité de la diphtérie, et, toujours en suspens quoique partiellement résolue, elle vient de

(1) LEWANDOWSKY, Die Pseudodiphtheriebacillen u. ihre Beziehung zu den Diphtheriebacillen (*Centralbl. f. Bakt.*, XXXVI, 1904, p. 336 et 472).

SACQUÉPÉE, Les Porteurs de germes (Bacilles diphtériques) (*Bull. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1910, p. 689).

JOB, Bacilles diphtériques vrais et bacilles pseudodiphtériques (*Journ. de Physiol.*, XII, 1910, p. 220).

ROUSSEL et MALARD, Bacilles diphtériques et Bacilles pseudodiphtériques (*Rev. d'Hygiène*, XXXII, 1910, p. 1060).

puiser un regain d'intérêt dans la remarquable communication que fit Neisser (1) au récent Congrès de microbiologie de Berlin. Neisser insiste sur la valeur incontestable du diagnostic bactériologique, mais n'en dissimule pas les difficultés : même lorsque le premier ensemencement des produits pathologiques a permis d'obtenir une culture pure, il recommande, pour établir qu'on a bien affaire à un Bacille de Loeffler, de soumettre le microbe à de multiples épreuves : goutte pendante, nombreuses colorations, recherche des grains métachromatiques, de l'acidification des milieux, du pouvoir anaérobie facultatif, de la virulence. Neisser pensa ainsi éliminer presque complètement l'erreur possible due à la présence de bacilles pseudodiphtériques et démontrer, dans 56 cas sur 60 examens d'angine, la spécificité des bacilles qu'il avait identifiés.

Il y aurait lieu, certes, de se féliciter d'un tel résultat si Neisser lui-même n'avouait que, dans les quatre autres cas, les bacilles avirulents isolés sont à considérer comme pseudodiphtériques, bien que l'un en particulier avait satisfait à toutes les autres épreuves et présentait, sous ces rapports, les caractères du bacille diphtérique typique.

Il semble, dès lors, qu'on doive adopter la conclusion suivante : les méthodes morphologiques et culturales, même les plus délicates et les plus compliquées, sont incapables à elles seules de permettre d'affirmer la

(1) Bericht über die 7. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin (*Centralbl. f. Bakt.*, 14 juin 1913).

NEISSER, Bakteriologie der Diphterie (*Ibid.*, p. 1).

nature diphtérique d'un germe. Bien plus, ne risque-t-on pas, en les appliquant trop rigoureusement et en attachant une importance trop grande à des caractères secondaires, d'éliminer des bacilles atypiques virulents et par conséquent diphtériques?

A vrai dire, toutes les épreuves préconisées pour la différenciation du bacille diphtérique sont de valeur très inégale et, malgré les nombreuses recherches effectuées depuis la première communication de Loeffler, seule l'inoculation expérimentale, c'est-à-dire la recherche de la virulence, en reste le critérium.

Malheureusement, dans la pratique journalière, cette épreuve de haute valeur n'est guère d'une application plus réalisable que celles auxquelles il a été fait allusion plus haut, et ne peut, en raison des difficultés, être réservée qu'à certains cas particuliers.

Il n'est pas toujours facile de faire la preuve qu'un bacille est toxique; cette recherche, pour être correcte, implique l'isolement du germe, qui peut être long et difficile, et, après son inoculation au cobaye, il faut encore attendre le résultat pendant plusieurs jours, voire même des semaines.

Dans la pratique des laboratoires, où le bactériologiste doit renseigner le praticien dans le plus bref délai, il convient généralement de se contenter des épreuves fondamentales qui donnent le plus de certitude.

La culture sur sérum coagulé, son examen après 24 heures, les colorations par la méthode de Gram et la recherche des grains de Neisser sont celles qui sont employées couramment.

En procédant ainsi, il est certain qu'on n'obtient pas de résultats de valeur absolue, qu'intervient l'erreur due à la présence de bacilles pseudodiphtériques et qu'il y a une correction à faire aux chiffres obtenus. C'est ce que nous avons cherché à préciser dans ce modeste travail, basé sur la recherche de la virulence des bacilles isolés dans 60 cas variés de diphtérie, tels qu'ils se sont présentés à l'examen, suivant les hasards de la clinique.

TECHNIQUE

Nous nous sommes imposé d'obtenir le plus rapidement possible une culture pure du germe suspect pour en rechercher la virulence.

Dans quelques cas, le développement simultané de plusieurs espèces microbiennes avec le bacille diphtérique et la confluence des colonies en rendit l'isolement impossible dès la première culture. Pour y arriver, il eût fallu de nouveaux ensemencements et une nouvelle attente de plusieurs jours. Ces cas ont été éliminés systématiquement en raison de l'atténuation possible du bacille pendant les diverses manipulations, et de l'incertitude où l'on est de lui rendre à coup sûr sa virulence, même par un entraînement intensif.

L'ensemencement des exsudats divers fut fait sur sérum coagulé, qui est plus propice au développement du bacille diphtérique qu'à celui d'autres germes, et en permet un isolement plus facile. Il est à ce point de vue préférable au milieu de Loeffler, qui est très

nutritif, grâce à sa composition (sérum peptonisé et macération de viande) et facilite le développement simultané de beaucoup d'espèces microbiennes.

Sur sérum coagulé le bacille diphtérique pousse moins vite et moins abondamment que sur milieu de Lœffler, et son développement peut être retardé jusqu'à 24 heures et même 48 heures. Ces retards de développement, déjà signalés avec le milieu de Lœffler (1), sont ici plus manifestes, et une culture, négative après 24 heures, doit être remise à l'étuve pour être examinée à nouveau le lendemain.

L'aspect des colonies et leur abondance donnent des indications précieuses mais ne permettent en rien d'affirmer la nature des germes cultivés.

Leur examen après simple coloration, à la toluidine par exemple, donne des renseignements précis sur les caractères morphologiques essentiels du bacille : forme longue, moyenne ou courte, ramifiée, en massue, aspect en V, en L, en palissade, en broussailles, en paquet d'épingles...

Pour un œil exercé, ils sont faciles à saisir et constituent des caractères suffisamment nets pour que sur eux se base le diagnostic. Aussi, pour se placer essentiellement dans les conditions du diagnostic journalier, où le bactériologiste est appelé par ces seuls caractères à donner des conclusions, doit-on considérer comme germe suspect « tout bacille qui pousse sur sérum

(1) MEUNIER (M.), Nouvelles Recherches sur les bacilles diphtériques vrais et les bacilles pseudodiphtériques (*Bull. de l'Acad. Méd. de Belgique*, 31 mai 1913).

coagulé et présente les caractères morphologiques du bacille diphtérique ».

Chaque bacille futensemencé en bouillon Martin et sa culture de 24 heures fut inoculée au cobaye, à la dose constante de « 1 centimètre cube », pour en vérifier la virulence.

On sait que cet animal, malgré quelques réserves (1) et en s'entourant de certaines précautions, est le véritable réactif expérimental de la diphtérie : les cobayes employés doivent toujours être neufs et avoir de préférence un poids moyen, oscillant entre 250 et 500 grammes. Les très gros cobayes doivent être laissés de côté, car ils présentent des réactions plus atténuées et par conséquent plus difficiles à saisir. Nous avons toujours pratiqué l'inoculation sous-cutanée qui donne les résultats les plus constants et les plus comparables.

Les animaux inoculés furent maintenus en observation pendant trois semaines environ, de façon à saisir les réactions, même tardives, attribuées par certains auteurs aux toxones (2). Toute mort fut suivie d'autopsie consignnant les principales lésions observées.

Comme complément à la recherche de la virulence, on nota les autres caractères des bacilles inoculés et l'on pratiqua la plupart des autres méthodes de différenciation pour se rendre compte de la valeur exacte

(1) T. SMITH, Degrees of susceptibility to diphteria toxin among guinea-pigs (*Journ. of med. Research*, t. XIII, f. 3, février 1905).

(2) MADSEN, La Constitution du poison diphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 569 et 801).

que l'on peut attacher à chacune d'elles dans la diagnose.

Parmi elles, on a laissé volontairement de côté l'agglutination (1), la réaction de fixation (2) et l'épreuve de Pfeiffer, qui ne sont pas d'application courante en raison de leur infidélité dans la diphtérie ou de leur technique longue et délicate.

Les renseignements présentant un réel intérêt ont été consignés, ce sont :

- 1^o L'indication d'origine du bacille (cas clinique);
- 2^o La rapidité de développement de la culture sur sérum coagulé;
- 3^o Les associations microbiennes au moment de l'examen;
- 4^o La forme du bacille;
- 5^o La coloration à la méthode de Gram;
- 6^o La recherche des grains de Neisser;
- 7^o L'acidification en bouillon peptoné;
- 8^o La fermentation des sucres;
- 9^o Les résultats de l'inoculation au cobaye;
- 10^o La conclusion sur l'activité du bacille inoculé;
- 11^o La conclusion sur la variété du bacille.

On trouvera ces renseignements résumés dans les tableaux ci-après.

(1) NICOLAS, L'Agglutination du Bacille de Loeffler par le sérum antidiphtérique est-elle constante? (*Soc. de Biologie*, 4 juin 1898.)

(2) LAMBOTTE, Les Sensibilisatrices des bacilles diphtériques et pseudodiphtériques (*Centralbl. f. Bakt.*, XXX, 1901).

MORSE, The application of the complement-fixation reaction to the diphtheria group of organisms (*Journ. of inf. dis.*, t. XI, nov. 1912, p. 433).

NUMÉRO d'ordre	CAS CLINIQUE	RAPIDITÉ du développe- ment	CULTURE PURE et associations	FORME du bacille	GRAM	GRAINS de Neisser	ACIDITÉ en B. peptoné	GLUCOSE
1	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	
2	Angine catarrhale	18 heures	Culture pure	Court	Faible- ment +	Peu nets	+	
3	Angine pseudomem- braneuse avec adé- nopathie très mar- quée.	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	
4	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure peu abondante	Long	Très faible- ment +	—	—	
5	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	Irrégu- lièrement +	+	+	
6	Angine pseudomen- braneuse et croup	18 heures	Culture pure	Long	—	—	+	
7	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	Irrégu- lièrement +	—	+	
8	Angine — ? —	18 heures	Culture pure	Court	Faible- ment +	—	—	
9	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Court	—	Peu nets	—	
10	Angine pseudomembraneuse	18 heures	B. Loeffler et staphylocoque	Court	Faible- ment	—	Faible- ment +	Faible- ment
11	Angine — ? —	18 heures	B. Loeffler et coccus Brissou	Moyen	Faible- ment +	+	Faible- ment +	
12	Angine — ? —	24 heures	Culture pure Colonies peu nombreuses	Moyen	+	+	+	
13	Angine catarrhale avec adénopathie très marquée	18 heures	B. Loeffler très rare et streptocoque	Long	Irrégu- lièrement +	+	Faible- ment +	Faible- ment +
14	Angine pultacée avec adénopathie très marquée	18 heures	B. Loeffler, streptocoque et microcoque	Moyen	Irrégu- lièrement +	+	+	—
15	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Court	+	+	+	+

LÉVULOSE	POIDS du cobaye inoculé	RÉACTION LOCALE	MORT	CONCLUSION Activité	CONCLUSION sur le bacille
+	250 gr.	Œdème après 18 heures	En 40 heures Congestion des organes (surrénale, rein, foie)	Très marquée	B. diphtérique
+	350 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent
+	430 gr.	Œdème après 14 heures	En 40 heures Congestion des organes	Très marquée	B. diphtérique
+	380 gr.	Fort œdème avec formation d'eschare non guérie le 15 ^e jour.	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	340 gr.	Fort œdème disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	350 gr.	Pas d'œdème	En 16 heures, congestion vasculaire très marquée, épanchement pleural sanguinolent	Très marquée	B. diphtérique
+	360 gr.	Œdème après 18 heures	En 40 heures Congestion surrénale	Très marquée	B. diphtérique
+	450 gr.	Œdème non disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
—	500 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. Hoffmann
faiblement +	400 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent — B. Hoffmann
—	540 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent — B. Hoffmann
+	420 gr.	Fort œdème non disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
faiblement +	440 gr.	Léger œdème le 2 ^e jour, disparu le 5 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	360 gr.	Léger œdème	En 36 heures, surrénales, hémorragiques épanchement pleural, séro-hématique.	Très marquée	B. diphtérique
+	330 gr.	Léger œdème le 2 ^e jour, disparu le 5 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique

NUMÉRO d'ordre	CAS CLINIQUE	RAPIDITÉ du développe- ment	CULTURE PURE et associations	FORME du bacille	GRAM	GRAINS de Neisser	ACIDITÉ en B. peptoné	GLUC.
16	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	+
17	Angine pultacée avec adénopathie marquée	18 heures	Culture pure	Long	Faible- ment +	+	+	+
18	Angine pultacée avec adénopathie marquée	18 heures	B. Loeffler, microcoque et streptocoque	Moyen	Faible- ment +	+	+	+
19	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Long	+	+	+	+
20	Angine catarrhale	24 heures	Culture pure	Court	+	Peu nets	+	+
21	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Court	+	+	+	+
22	Angine pseudomembraneuse avec adénopathie très marquée	18 heures	B. Loeffler et streptocoque	Moyen	Faible- ment +	+	+	+
23	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Long	Faible- ment +	+	+	+
24	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Court	Faible- ment +	—	+	Faible- ment +
25	Angine — ? —	18 heures	B. Loeffler et microcoque	Court	Irrégu- lièrement +	+	?	?
26	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	—	+	Faible- ment +	Faible- ment +
27	Angine — ? —	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	?	?
28	Angine — ? —	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	?	?
29	Angine pultacée avec forte adénopathie	18 heures	B. Loeffler et streptocoque	Court	—	—	+	+
30	Angine pultacée avec forte adénopathie	18 heures	Culture pure	Long	Irrégu- lièrement +	+	+	+

PLÉVU- LOSE	POIDS du cobaye inoculé	RÉACTION LOCALE	MORT	CONCLUSION Activité	CONCLUSION sur le bacille
+	270 gr.	Peu d'œdème	En 20 heures Congestion surrénale, hépatique et rénale	Très marquée	B. diphtérique
+	320 gr.	Fort œdème après 12 heures, non disparu le 8 ^e jour, eschare apparue tardive- ment	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	340 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent
+	320 gr.	Œdème apparu en 18 heures	En 48 heures Congestions multiples, épanchement pleural séro-sanguin	Très marquée	B. diphtérique
+	250 gr.	Léger œdème le 2 ^e jour, disparu le 5 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	280 gr.	Léger œdème le 2 ^e jour, disparu le 6 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	300 gr.	Fort œdème et formation d'eschare non guérie le 15 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	380 gr.	Œdème après 12 heures	En 36 heures Congestions multiples, épanchement pleural séreux	Très marquée	B. diphtérique
Faible- ment +	350 gr.	Fort œdème disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
?	420 gr.	Léger œdème le 2 ^e jour, disparu le 4 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
Faible- ment +	320 gr.	Très léger œdème le 2 ^e jour, disparu le 4 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
?	250 gr.	Œdème après 12 heures	En 48 heures Congestion surrénale, léger épanchement pleural	Très marquée	B. diphtérique
?	260 gr.	Œdème non disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	330 gr.	Œdème le 2 ^e jour, disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	460 gr.	Œdème le 2 ^e jour Eschare	Néant	Marquée	B. diphtérique

NUMÉRO d'ordre	CAS CLINIQUE	RAPIDITÉ de développe- ment	CULTURE PURE et associations	FORME du bacille	GRAM	GRAINS de Neisser	ACIDITÉ en B. peptoné	GLUCO
31	Angine pultacée	18 heures	Culture pure Rares colonies	Moyen	Faible- ment +	+	+	+
32	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Long	+	+	+	+
33	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	+
34	Angine et laryngite catarrhales	24 heures	B. Loeffler et streptocoque	Long	Irrégu- lièrement +	+	+	+
35	Convalescent d'angine pseudomembraneuse (n° 16)	48 heures	B. Loeffler et microcoque	Long	Faible- ment +	+	+	+
36	Croup d'emblée ayant nécessité la trachéotomie	48 heures	B. Loeffler et bacille indéterminé	Moyen	Faible- ment +	+	+	+
37	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Long	+	+	+	+
38	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	+
39	Rhinite chronique datant d'un an et demi	18 heures	Culture pure	Moyen	Très faible- ment +	+	+	+
40	Rhinite unilatérale sanguinolente datant de trois mois	18 heures	Culture pure	Long	+	+	+	+
41	Convalescent de diph- térie, 3 ^e prélèvement (n° 16 et 35)	18 heures	B. Loeffler et streptocoque donnant de l'indol	Moyen	Très faible- ment $\frac{+}{2}$	+	+	+
42	Angine pseudomembraneuse paralysie diphtérique	48 heures	Culture pure	Moyen	Faible- ment -	+	+	+
43	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	—	—	—	—
44	Angine et laryngite catarrhales	18 heures	Culture pure	Long	Faible- ment +	+	+	+
45	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Long	+	+	+	+

LÉVU- LOSE	POIDS du cobaye inoculé	RÉACTION LOCALE	MORT	CONCLUSION Activité	CONCLUSION sur le bacille
+	480 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent
+	460 gr.	Léger œdème le 2 ^e jour, disparu le 6 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	540 gr.	Fort œdème le 2 ^e jour, Eschare le 6 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	550 gr.	Œdème le 2 ^e jour	Le 6 ^e jour Congestion surrénale, hépatique et rénale	Très marquée	B. diphtérique
+	520 gr.	Œdème le 2 ^e jour, non disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	320 gr.	Œdème le 2 ^e jour, disparu le 6 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	300 gr.	Peu d'œdème	En 20 heures. Conges- tion des organes, ec- chymoses sous-pieu- rales avec épanche- ment séro-hémati- que, surrénales hé- morrhagiques	Très marquée	B. diphtérique
+	350 gr.	Œdème après 18 heures, non disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	400 gr.	Œdème après 18 heures	Le 3 ^e jour. Surrénales volumineuses et con- gestion des organes	Très marquée	B. diphtérique
+	400 gr.	Fort œdème le 2 ^e jour Eschare	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	350 gr.	Peu d'œdème	En 16 heures. Épanche- ment pleural séro-hé- matique, surrénales volumineuses, pou- mons splénisés	Très marquée	B. diphtérique
+	280 gr.	Fort œdème le 2 ^e jour	Le 3 ^e jour. Surrénales volumineuses, épan- chement pleural sé- reux	Très marquée	B. diphtérique
-	260 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. Hoffmann
+	280 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent
+	300 gr.	Fort œdème le 2 ^e jour	Le 9 ^e jour Congestion surrénale	Très marquée	B. diphtérique

NUMÉRO d'ordre	CAS CLINIQUE	RAPIDITÉ du développe- ment	CULTURE PURE et associations	FORME du bacille	GRAM	GRAINS de Neisser	ACIDITÉ en B. peptoné	GLUCO
46	Porteur sain au voisinage de malade	18 heures	B. Loeffler, microcoque et bacille indéterminé	Court	Faible- ment +	+	+	+
47	Porteur sain au voisinage de malade	18 heures	B. Loeffler et staphylocoque	Court	Faible- ment +	+	+	+
48	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	+
49	Angine pultacée avec forte adénopathie	18 heures	B. de Loeffler et streptocoque	Court	Irréguli- èrement +	Peu nets	+	+
50	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Long	Irréguli- èrement +	+	+	+
51	Angine pseudomembraneuse	24 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	+
52	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Court	Faible- ment +	+	+	+
53	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	+
54	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Moyen	+	—	—	Faible- ment +
55	Angine pseudomembraneuse	18 heures	B. Loeffler et microcoque	Moyen	Faible- ment +	+	+	Faible- ment +
56	Angine pseudomembraneuse	18 heures	B. Loeffler peu abondant Pneumobacille Coccus Brisou	Moyen	Faible- ment +	+	+	+
57	Angine pseudomembraneuse et croup	18 heures	Culture pure	Long	+	+	+	+
58	Angine pseudomembraneuse	18 heures	Culture pure	Long	+	+	+	+
59	Angine pultacée	18 heures	Culture pure	Moyen	+	+	+	—
60	Convalescent de diph- térie (4 ^e prélèvement (n ^{os} 16, 35, 41)	18 heures	B. Loeffler et microcoque	Court	+	Peu nets	+	+

LÉVULOSE	POIDS du cobaye inoculé	RÉACTION LOCALE	MORT	CONCLUSION Activité	CONCLUSION sur le bacille
+	310 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent
+	280 gr.	Néant	Néant	Nulle	B. diphtérique avirulent
+	250 gr.	Fort œdème non disparu le 8 ^e jour	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	360 gr.	Œdème local	En 36 heures Surrénales hémorragiques, poumon splénisé, épanchement pleural séreux	Très marquée	B. diphtérique
+	260 gr.	Fort œdème Formation d'eschare	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	270 gr.	Œdème local	Le 3 ^e jour. Congestion des ganglions et des organes abdominaux, surrénales volumineuses	Très marquée	B. diphtérique
+	270 gr.	Léger œdème	Néant	Marquée	B. diphtérique
+	340 gr.	Œdème	Le 3 ^e jour. Congestion des organes, épanchement pleural séro-hématique	Très marquée	B. diphtérique
Faiblement +	320 gr.	Léger œdème	Rien	Marquée	B. diphtérique
+	260 gr.	Léger œdème	Rien	Marquée	B. diphtérique
+	220 gr.	Œdème non disparu le 8 ^e jour	Rien	Marquée	B. diphtérique
+	250 gr.	Fort œdème Eschare	Rien	Marquée	B. diphtérique
+	520 gr.	Œdème disparu le 6 ^e jour	Rien	Marquée	B. diphtérique
+	240 gr.	Œdème	Le 2 ^e jour Congestion surrénale	Très marquée	B. diphtérique
+	280 gr.	Fort œdème non disparu le 8 ^e jour	Rien	Marquée	B. diphtérique

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Les cas de diphtérie étudiés et résumés dans les tableaux précédents ont à la fois la valeur de statistiques par leur nombre, et prêtent à de multiples considérations cliniques et bactériologiques en raison de leur diversité d'origine et de leur variété. Ils proviennent, en effet, de régions très diverses de l'Est de la France, qui s'adressent depuis de longues années à l'Institut Sérothérapique, où fut créé, dès 1895, un service gratuit d'analyses bactériologiques visant spécialement la prophylaxie de la diphtérie.

1^o *Observations cliniques.* — La simple lecture des quelques indications cliniques qu'ils mentionnent est des plus suggestives malgré leur brièveté. On voit notamment qu'il n'y a pas corrélation entre la fausse membrane et la présence du bacille. Des angines catarrhales, qui ne s'accompagnent d'exsudat pseudomembraneux à aucun moment de leur évolution (n^{os} 13, 20, etc.), des angines pultacées, où l'exsudat n'a rien

de caractéristique (nos 14, 15, 17, etc.), sont dues à des bacilles diphtériques authentiques, parfois très virulents (nos 14, etc.). Ces faits, déjà signalés par les cliniciens, sont bien établis aujourd'hui par un certain nombre d'analyses bactériologiques (PRUDDEN, HOFFMANN, KOPLICK) (1).

Ils méritent cependant qu'on insiste sur eux car ce ne sont pas là « de très rares exceptions », suivant l'expression de Grancher, Boulloche et Babonneix (2). Il nous semble, au contraire, que ces angines diphtériques atypiques sont fréquentes, particulièrement en milieu endémique, et réclament toute l'attention et la sagacité du praticien, en raison de la prophylaxie à établir.

L'angine diphtérique classique, caractérisée par la présence de fausses membranes et tout un ensemble de symptômes locaux et généraux, tend à devenir de moins en moins fréquente, malgré certains retours offensifs. Il semble qu'on assiste, à propos de la diphtérie, à la même évolution que pour certaines maladies, où les types purs sont plus rares et remplacés par des formes frustes ou bâtardes.

En voici un exemple (n° 37) brièvement résumé par un confrère : « L'enfant a présenté une angine pultacée sans fausses membranes, il n'y a pas eu de fièvre, pas d'engorgement ganglionnaire; le malade n'a pas gardé le lit. Bref, angine banale qui aurait pu passer

(1) KOPLICK, *Arch. of Pediatrics*, 1892, p. 662.

(2) Diphtérie (*Nouveau Traité de Médecine* 1911, t. IX, p. 118).

inaperçue. » Et cependant l'analyse bactériologique révéla la présence, dans la gorge de l'enfant, du Bacille de Loeffler, extrêmement virulent, tuant le cobaye en moins de 16 heures. La nature diphtérique de telles angines comporte de grosses conséquences au point de vue prophylactique parce qu'elles risquent souvent d'être méconnues, si le clinicien averti n'a pas recours à l'analyse bactériologique. Pour le moins, même en admettant qu'elles guérissent spontanément sans avoir donné l'éveil, elles peuvent contagionner l'entourage. Dans d'autres cas plus graves, l'apparition d'un croup dit « d'emblée » (n° 36), d'une paralysie diphtérique (n° 42), d'une rhinite chronique (nos 39, 40) vient révéler l'infection diphtérique dont on a méconnu la première étape.

2° *Rapidité de développement.* — Comme le bacille diphtérique pousse plus rapidement que d'autres espèces microbiennes sur sérum coagulé, et qu'après 18 heures d'étuve sa culture est bien développée, on a eu la tendance toute naturelle à admettre comme principe qu'une culture négative après 24 heures ne contenait pas de bacilles diphtériques.

Nos constatations personnelles nous amènent au contraire à conclure que, *même dans les diphtéries non traitées, des bacilles diphtériques authentiques peuvent avoir un développement retardé* depuis la 24^e heure (nos 12, 20) jusqu'à la 48^e heure (nos 35, 36 et 42). La proportion de ces bacilles à développement tardif est assez élevée (10 %).

La conséquence importante à tirer est que *toute culture négative après 24 heures doit être remise à l'étuve après réponse provisoire, et examinée à nouveau après 48 heures pour donner la réponse définitive.*

Le bactériologiste doit appliquer systématiquement cette règle, s'il ne veut pas s'exposer à des méprises dont voici quelques exemples.

Un petit garçon d'une famille de quatre enfants présente une angine suspecte (n° 40), pour laquelle l'analyse bactériologique, faite par un laboratoire, est négative au point de vue diphtérie après 24 heures. Les autres enfants, laissés en contact avec le malade, ne tardent pas à être atteints à leur tour d'angine, et l'affection se complique chez le malade d'une rhinite chronique diphtérique qui donne en culture un bacille abondant et virulent.

Autre exemple : une angine suspecte (n° 42) est déclarée non diphtérique après culture de 24 heures, lorsque apparaît, quelques jours plus tard, une paralysie diphtérique qui décide le clinicien à demander une nouvelle analyse.

Cette dernière et la culture primitive, qui est examinée à nouveau, révèlent la présence d'un bacille diphtérique virulent.

Ces faits commandent donc la plus grande prudence au bactériologiste avant de formuler une conclusion ferme, et sans doute faut-il leur attribuer certaines incohérences où le clinicien, envoyant le même exsudat à deux laboratoires différents, est à juste titre fort surpris de recevoir une réponse affirmative de l'un,

négative de l'autre. Ce retard de développement du bacille diphtérique n'est pas lié essentiellement à la pauvreté du milieu de Roux puisque Neisser le signale pour le milieu de Loeffler dont le pouvoir nutritif est très grand grâce au mélange de sérum peptonisé et de macération de viande qui entre dans sa constitution et le fait considérer comme « un milieu d'engraissement » (*Schmierplatte*). Il est subordonné à la vitalité propre du bacille, et souvent M. le professeur Macé attira notre attention sur certaines causes de cet amoindrissement : les diphtéries qui ont été traitées par le sérum et surtout par des applications locales antiseptiques, par des lavages..., donnent souvent en culture des bacilles en quelque sorte inhibés, à développement ralenti, sans que nécessairement disparaisse leur virulence (nos 36, 42).

Neisser et Braun ont constaté de même que, chez les convalescents de diphtérie, 9 à 10% des examens négatifs le premier jour deviennent positifs le deuxième. Trautmann et Gaehtgens (1) ont fait semblable observation pour 26,5% des cas négatifs le premier jour, dont 20% chez les convalescents : les trois quarts de ces microbes, poussant plus lentement, étaient encore virulents.

Ce qu'il était intéressant de relever c'est que *ces bacilles à développement retardé n'interviennent pas seulement chez les convalescents, mais aussi, et en pro-*

(1) TRAUTMANN et GAEHTGENS, Einige schwebende Fragen der bakteriologischen Diphteriediagnose (*Centralbl. f. Bakt.*, 14 juin 1913, p. 61).

portion notable (10^o/o), chez les diphtériques non encore traités.

3^o *Associations microbiennes.* — Le bacille diphtérique n'existe pas seul dans les fausses membranes; on y trouve, à côté de lui, des microbes variés plus ou moins abondants, qui peuvent jouer un rôle dans l'évolution clinique de l'affection.

L'avantage de l'ensemencement sur sérum coagulé, pour l'obtention du Bacille de Loeffler en culture pure, devient un gros inconvénient pour l'étude des associations microbiennes, car certains microbes ne poussent que tardivement sur ce milieu, et d'autres, tels que le bacille fusiforme, n'y poussent pas du tout dans les conditions où on l'emploie. D'autres espèces, très rares dans la fausse membrane mais à développement précoce, prennent dans la culture une place prépondérante au point d'en étouffer d'autres primitivement plus abondantes.

La présence des germes étant subordonnée à leur aptitude à se développer sur le milieu où on les sème, *on ne peut donc établir aucune relation certaine entre leur constatation dans la culture et le rôle qu'ils peuvent jouer dans la pathogénie de l'infection.*

Les recherches ont montré que, même lorsqu'il existe entre les colonies de bacilles diphtériques un semis très serré de colonies de microbes associés, il ne fallait pas attacher une valeur absolue à l'étude des cultures pour le diagnostic des associations et en tirer des éléments de pronostic aussi catégoriques que

l'a indiqué Martin (extrême gravité dans les associations du streptocoque ou du staphylocoque; bénignité relative dans les cas d'association du coccus Brisou, du pneumocoque). C'est ce que montrent certains des cas que nous rapportons (nos 13, 22, 29, etc.).

Nous avons observé en revanche un exemple très curieux d'exaltation rapide de virulence (n° 41), par l'association au Bacille de Loeffler d'un streptocoque donnant de l'indol. Le bacille tuait le cobaye en moins de 16 heures alors que huit jours auparavant (n° 35), sans ce streptocoque, il ne produisait qu'une réaction locale.

Il faut reconnaître qu'encore à l'heure actuelle, et malgré tout l'intérêt qu'elle présente, l'étude des associations microbiennes de la bouche est à peine ébauchée. L'examen direct, comme le dit Bezançon, est la meilleure façon de renseigner exactement sur la proportion des microbes associés et n'expose pas, comme la culture, à faire prédominer certains germes aux dépens des autres qui trouvent un terrain de développement moins propice. C'est particulièrement vrai pour le streptocoque et applicable dans la pratique courante. Il resterait malheureusement à la compléter par l'isolement et l'étude de ces germes, à déterminer les actions de ces microbes entre eux, les modifications qu'ils impriment au terrain et les influences qu'ils subissent de ce dernier: problèmes complexes que nous ne saurions envisager ici et qui nécessiteraient de longues et délicates recherches.

La simple énumération des principales espèces que nous avons rencontrées seules ou associées au Bacille

de Loeffler n'aurait rien d'original, ne faisant que répéter ce qui existe dans les nombreux traités de bactériologie (1).

4^o *Forme du bacille*.—La moitié environ des bacilles que nous avons isolés sont de type moyen (soit 28), l'autre moitié étant des bacilles de type court (soit 15) ou long (soit 17). On remarquera que la virulence n'est pas nécessairement en rapport avec leur forme. Les bacilles pseudodiphtériques moyens et longs sont moins rares qu'on ne le prétend habituellement.

5^o *Coloration à la méthode de Gram*. — Le bacille diphtérique coloré par le violet de gentiane et traité par la méthode de Gram, ou mieux d'après Neisser par la méthode de Gins (2), garde sa coloration primitive après traitement par l'alcool ou l'alcool-acétone. On dit, dans les traités classiques, qu'il garde le Gram.

Ce caractère est cependant loin d'être constant. Toute question de colorant mise à part, il dépend à la fois de l'opérateur et des propriétés mêmes du bacille. Comme le dit M. le professeur Macé, le bacille diphtérique, traité par la méthode de Gram, ne garde qu'imparfaitement le colorant, et encore ne doit-on pas faire agir l'alcool trop longtemps.

(1) MACÉ, *Traité pratique de Bactériologie*, 1913, t. II, p. 861.

(2) GINS, *Deutsch. mediz. Wochensch.*, 1913, n^o 11 (Liquueur de Gram additionnée de 1 % d'acide lactique).

Bien plus, *il est des bacilles diphtériques authentiques et virulents qui ne prennent pas le Gram* (nos 29, 41, etc.), et d'autres qui le gardent si faiblement, qu'en opérant même avec un test-microbe, il est difficile de conclure (nos 4, 39, etc.). Il nous est arrivé plus d'une fois d'obtenir, dans une même préparation, un bacille diphtérique complètement décoloré à côté de streptocoque conservant fortement le violet de gentiane.

Un autre caractère fréquent du bacille diphtérique est de prendre le Gram irrégulièrement, c'est-à-dire que dans la même préparation on trouve à la fois des éléments entièrement décolorés et d'autres, le plus souvent en amas, qui gardent bien le colorant.

Les éléments ne prenant pas le Gram semblent correspondre aux formes jeunes, tandis que les formes adultes, les formes renflées et en massue le conservent.

En somme, la méthode de Gram est d'une valeur très secondaire dans la différenciation des bacilles diphtériques et pseudodiphtériques, et l'importance que lui attribuent certains bactériologistes est exagérée, car ils risquent, en se basant sur ce caractère, d'éliminer des bacilles diphtériques atypiques virulents.

6° *Grains de Neisser*. — Il existe dans le corps protoplasmique du Bacille de Loeffler des granulations fixant très fortement la couleur : ce sont les corpuscules métachromatiques de Babès ou grains de Neisser.

Leur présence est assez régulière pour qu'on ait cherché à en faire un caractère différentiel, et cepen-

dant elle n'a guère plus de valeur que la méthode de Gram.

Comme il a été dit précédemment, les bacilles pseudo-diphtériques à forme longue ne sont pas rares, et certains possèdent manifestement dans leur intérieur des corpuscules métachromatiques (nos 11, 18, 31, 44). Ces granules ne sont donc pas une propriété exclusive du bacille diphtérique. Bien plus, des bacilles diphtériques authentiques à forme courte n'en possèdent pas (nos 8, 24, 29), au point que l'on a cherché à y remédier par des perfectionnements successifs des techniques de coloration, et déjà Blumenthal et Lipskerow (1) mentionnaient, en 1905, treize méthodes différentes (CROUCH, NEISSER, BRONSTEIN, COLES, PIORKOWSKY, PITFIELD, DE ROVAART, FALIÈRES, SCHAUFLE, FICKER, PECK, NEISSER [2^e méthode], LJUBUJSKI), sans qu'aucune d'elles réponde à tous les desiderata.

7^o *Acidité en bouillon peptoné.* — C'est une propriété constante du bacille diphtérique de produire de l'acide en bouillon peptoné dans les premiers jours de son développement (2); malheureusement la plupart des bacilles pseudodiphtériques la possèdent également (nos 2, 10, 11, 18, etc.). Seule une réaction franchement négative semble de quelque valeur (nos 9, 43), mais elle

(1) BLUMENTHAL et LIPSKEROW, Vergleichende Beurteilung der differentiellen Methoden zur Färbung des Diphtheriebacillus (*Centralbl. f. Bakt.*, I, Origin., t. XXXVIII, 18 mars 1905, p. 359).

(2) L. BECO, *Bulletin de l'Académie de Médecine de Belgique*.

se produit rarement, et il est des cas, à réaction amoindrie ou simplement retardée, pour lesquels il est parfois difficile de se prononcer.

Parmi les autres produits formés dans les cultures du bacille diphtérique, Palmirski et Orłowski (1) ont signalé la présence d'indol. Cette réaction nous semble tout à fait exceptionnelle, sinon problématique, car *jamais, dans les cultures âgées de 8 jours, nous n'avons pu constater de traces, même minimales, d'indol, par la MÉTHODE MACÉ (2), qui est d'une sensibilité incontestablement supérieure à la MÉTHODE D'EHRLICH.*

Elle paraîtrait en tout cas ne devoir se produire que très tardivement, et par cela même perd toute valeur pour le diagnostic rapide.

8° *Fermentation des sucres.* — Cette méthode, préconisée par les auteurs américains, entre autres par Gordon, Knapp, Zinsser (3), etc., a une valeur analogue à celle de la recherche de l'acidité en bouillon peptoné.

Parmi les sucres à utiliser ce sont le glucose et le lévulose qui donnent les meilleurs résultats. D'après

(1) PALMIRSKI et ORŁOWSKI, Ueber die Indolreaction in Diphtheriebouillonkulturen (*Centralbl. f. Bakt.*, XVII, 1895, p. 358).

(2) MACÉ, *Traité pratique de Bactériologie*, t. II, 1913, p. 809.

(3) GORDON, Report on Bacillus diptheriae and microorganisms liable to be confounded therewith (*The local government board*, 31^e rapport, p. 418).

KNAPP, *Journ. of medic. Research*, t. XII, nov. 1904, p. 475.

ZINSSER, *Ibid.*, t. XVII, déc. 1907, p. 277.

Rothe (1) les bacilles diphtériques vrais fermentent toujours ces sucres tandis que les bacilles pseudodiphtériques ne les modifient en rien, et l'on aurait là une méthode pratique de différenciation.

Comme Rothe, nous avons remarqué dans nos expériences que ces sucres sont habituellement fermentés par le bacille diphtérique, mais qu'ils pouvaient l'être aussi par des bacilles pseudodiphtériques (nos 2, 18, 31). Seuls certains pseudodiphtériques n'ont pas cette propriété (nos 9, 43) et, pour eux, il semble qu'on puisse éliminer de ce fait leur nature diphtérique.

Il n'en est rien, et parfois on peut obtenir un virage tardif au rouge indiquant que la propriété de produire de l'acide existe, mais très amoindrie, à l'état rudimentaire (nos 10, 13, 26) et tout au moins très lente à se développer.

En somme, d'après l'épreuve des sucres, on peut classer ainsi les bacilles isolés :

a) Dans un premier groupe le Bacille de Loeffler, qui forme des acides au contact du glucose et du lévulose;

b) Dans un deuxième groupe les bacilles type Hoffmann, qui ne produisent rien;

c) Entre ces deux groupes existe toute une série d'intermédiaires diphtériques et pseudodiphtériques, qui n'ont rien de caractéristique et sont d'autant plus

(1) ROTHE, Beitrag zur Differenzierung der Diphteriebacillen (*Centralbl. f. Bakt.*, I. Origin., t. XLIV, 1907, p. 618).

nombreux qu'on opère sur une plus grande variété de milieux (1).

La propriété de produire des acides n'est pas spécifique du microbe, et Walker (2), dans une étude récente, ne confirme pas la valeur des bases de classifications empruntées aux fermentations sucrées, car l'action d'un même microbe (*streptocoque*) sur les différents sucres est susceptible de varier dans une large mesure.

Il semble qu'on peut appliquer ces conclusions au bacille diphtérique et dire que, pour sa différenciation, les fermentations sucrées ne sont pas concluantes, dépendant dans une large mesure des conditions de culture du microbe.

En résumé, les épreuves précédentes ont une valeur très relative pour la spécification du bacille diphtérique. A côté des bacilles qui présentent des réactions typiques, il en est d'autres où les caractères différentiels sont estompés, parfois même insaisissables.

En ayant recours à ces épreuves dans la pratique journalière, on retarderait inutilement le diagnostic bactériologique et, par leur application rigoureuse, on écarterait certains bacilles diphtériques atypiques.

(1) HINC, Biochemical reactions of diptheria-like organisms (*Journ. of Path. and Bact.*, t. XVIII, juillet 1913, p. 75).

(2) WALKER, Further Observations on the Variability of *Streptococci*, in relation to certain Fermentation Tests, together with some Considerations Bearing on its possible Meaning (*Proc. R. Soc. B.*, t. LXXXV).

VIRULENCE DES BACILLES DIAGNOSTIQUÉS DIPHTHÉRIQUES DANS LES EXAMENS HABITUELS

Depuis les travaux de Pasteur et de Koch, on sait que, pour affirmer le pouvoir pathogène d'un germe, il est nécessaire de vérifier son activité sur l'animal.

L'idée directrice de ce travail a été de rechercher la virulence, chez le cobaye, des bacilles suspects, qui poussent sur sérum coagulé et présentent les caractères morphologiques du Bacille de Loeffler.

C'était en même temps la seule façon de nous rendre un compte exact de la valeur des autres méthodes de différenciation effectuées parallèlement, et on a vu dans le chapitre précédent que toutes, par suite de leur inconstance, avaient une importance très secondaire. La méthode de Gram ou celle de Gins, la recherche des grains de Neisser, la production d'acide en bouillon peptoné, la fermentation des sucres donnent des indications générales sur lesquelles le bactériologiste ne peut se fonder pour affirmer la nature diphtérique d'un germe.

L'inoculation au cobaye restera donc le seul critérium en raison de la sensibilité extrême de cet animal au poison diphtérique.

La technique employée est celle qui consiste à inoculer sous la peau 1 centimètre cube d'une culture de 24 heures. Cette méthode a l'avantage de ne pas dissocier l'action du bacille et de la toxine et, par l'énorme quantité inoculée, elle permet d'obtenir des réactions manifestes, souvent la mort de l'animal.

Dans ce dernier cas, l'autopsie autorise à affirmer que la mort est bien due à l'infection spécifique, grâce à la constatation des lésions pathognomoniques : congestion des viscères péritonéaux, hypertrophie et hémorragies des capsules surrénales, double pleurésie séro-hémorragique, congestions et hypertrophies ganglionnaires, etc.

En est-il de même lorsque, au lieu de la mort, on n'observe qu'une simple réaction locale? Peut-on conclure à la virulence du germe suspect lorsque celui-ci ne produit qu'un peu d'œdème ou une eschare au point d'inoculation?

Cette question est de première importance, puisque sur elle repose l'interprétation même des résultats et toute notre statistique.

Précisément, Spronck (1) fait remarquer que l'inoculation au cobaye de bacilles pseudodiphthériques est capable de produire des lésions locales analogues à celles du Bacille de Loeffler. Cet auteur signale, avec une dose de 1 centimètre cube de bacilles pseudo-

(1) SPRONCK, Le Diagnostic bactériologique de la diphtérie contrôlé par le sérum antidiphthérique (*Sem. méd.* 1896, n° 40, p. 317).

Id., Le Diagnostic bactériologique de la diphtérie et les difficultés causées par les bacilles pseudodiphthériques (*Ibid.*, 1897, n° 45, p. 353).

diphtériques en inoculation sous-cutanée, la production d'un petit œdème au point d'inoculation, disparaissant au bout de 48 heures, et, avec des doses plus fortes, la production de symptômes généraux : manque d'appétit, hérissément du poil, diminution de poids. Le sérum antidiphtérique n'aurait aucun effet préventif sur cette réaction locale mais en augmenterait plutôt l'étendue : il servirait ici de moyen de diagnostic.

Ces expériences déjà anciennes de Spronck ne sont pas faites cependant pour ébranler les convictions sur la valeur spécifique de l'œdème et de l'eschare envisagés comme réaction locale. D'après Martin, le bacille pseudodiphtérique qui, dans certains cas, donne de l'œdème localisé au cobaye et tue le moineau, perd ses propriétés nocives si on injecte préventivement à l'animal du sérum antidiphtérique. Ceci autorise à penser que, dans ces cas du moins, le bacille pseudodiphtérique, auquel on avait affaire, n'était qu'une forme très atténuée du bacille diphtérique vrai.

Plus récemment Römer (1) a préconisé la méthode intradermique, qui consiste à inoculer au même animal des dilutions variées de bacilles. En trois points de la peau du ventre d'un cobaye, on inocule respectivement 5.000, 50.000, 500.000 bacilles provenant de l'émulsion en sérum physiologique d'une culture sur sérum. Ces doses croissantes ont pour but de mieux apprécier l'intensité de la réaction.

En un quatrième endroit, on injecte un mélange de

(1) RÖMER, Ueber den Nachweis sehr kleinen Mengen des Diphteriegiftes (*Zeitsch. f. Immunit.* I. Origin., t. III, 30 juillet 1909).

1.000 bacilles + 1/2 I E (unité antitoxique d'Ehrlich). Cette quantité d'antitoxine est exactement évaluée pour éviter l'immunisation générale. Si le bacille est toxique, il se produit aux premiers points d'inoculation une réaction spécifique, rougeur et œdème de la peau, parfois même (fortes doses) suivie de nécrose le troisième et même le deuxième jour. Au quatrième endroit il ne doit se produire aucune réaction, l'antitoxine paralysant la toxine : on a ainsi la preuve que la toxine est bien diphtérique.

Par cette méthode, d'une extrême sensibilité, Neisser a pu se convaincre de la spécificité de l'œdème et de l'eschare comme réactions locales.

Cette démonstration étant faite, la méthode de Römer n'a aucune supériorité sur la technique usitée en France et présente seulement, d'après Neisser, l'avantage d'une économie d'animaux.

Une autre question plus précieuse est la suivante : comme dans les expériences de Römer, on vérifie la virulence du germe inoculé par l'épreuve de l'« antitoxine-contrôle », est-on en droit de transposer à l'homme ce qu'on observe chez l'animal? Peut-on appliquer à la clinique les données de l'expérimentation chez le cobaye, et un mélange toxine-antitoxine, inactif chez cet animal, l'est-il aussi chez l'homme?

Des expériences comparatives effectuées par Schick (1), chez l'homme et l'animal, il résulte qu'on peut répondre par l'affirmative.

(1) SCHICK, Spezifische Therapie der Diphtherie (*Centralbl. f. Bakt.*, 14 juin 1913, p. 16).

Nous sommes donc entièrement fondé à interpréter toutes les réactions locales que nous avons constatées sur les cobayes, comme preuve de la nature diphtérique des germes inoculés.

Dans les 60 observations, les bacilles se montrèrent d'activité variable et déterminèrent des réactions très diverses.

On doit considérer des bacilles actifs et des bacilles inactifs.

On aurait pu ranger les bacilles actifs comme on le fait habituellement en :

— Bacilles très virulents (qui tuent le cobaye en 24 à 36 heures);

— Bacilles moyennement virulents (qui le tuent en 2 à 5 jours);

— Bacilles peu virulents (ne provoquant la mort que tardivement ou ne produisant qu'une réaction locale).

Il est préférable de modifier cette classification pour les cas de cette dernière catégorie, qui ne sont pas entièrement comparables.

S'il paraît rationnel de prendre comme mesure de la virulence le temps au bout duquel un animal succombe, il semble bien qu'on ne puisse l'apprécier de la même façon, en prenant comme base l'intensité de la réaction locale.

L'œdème et l'eschare, malgré leur spécificité, ne sont pas entièrement corrélatifs de la toxicité. Précisément dans les cas où la mort est très rapide (n^{os} 7, 16, 37, 41, etc.), il est curieux de ne noter qu'un œdème minime ou même absent, comme si l'organisme,

sidéré par l'intensité de l'infection, n'avait pas eu le temps de réagir. Inversement, les œdèmes les plus forts s'observent plutôt dans les cas où l'animal survit ou ne meurt que tardivement. L'œdème et l'eschare sont donc au premier chef des réactions de défense, et résultent non seulement de l'action du bacille et de ses produits, mais aussi de la réceptivité de l'organisme auquel on l'inocule.

On ne peut assimiler l'intensité d'une réaction locale à un degré déterminé de virulence, et, dans les tableaux résumant les expériences, le terme *virulence* a été remplacé par celui plus objectif d'*activité*. Les bacilles ne provoquant que de l'œdème avec ou sans eschare ont été rangés seulement d'après leur degré d'activité.

Les *bacilles actifs* peuvent être classés de la façon suivante :

a) <i>Bacilles provoquant la mort</i>	{	<i>Bacilles très virulents</i> (tuant en moins de 48 heures)	13
(Activité très marquée)		<i>Bacilles moyennement virulents</i> (tuant en 2 à 5 jours)	4
		<i>Bacilles peu virulents</i> (tuant tardivement).	2
b) <i>Bacilles déterminant seulement une réaction locale.</i> . . .	{	<i>Bacilles déterminant œdème avec eschare.</i>	8
(Activité marquée.)		<i>Bacilles déterminant œdème</i>	11
		<i>Bacilles déterminant œdème léger et peu durable</i>	12

Cette classification, comme toute classification, n'est pas exempte de critiques, mais paraît plus exacte que la précédente. Elle a aussi l'avantage de mieux mettre en relief les bacilles dont l'inoculation ne produit qu'un léger œdème et qui pourraient être consi-

dérés comme pseudodiphtériques d'après la conception de Spronck. Leur proportion est assez élevée (un cinquième).

Plus intéressant, par les déductions qu'il comporte, est le nombre des *bacilles inactifs* que nous avons relevés dans nos expériences.

Il en a été trouvé 10 sur 60, soit une proportion de 16 à 17⁰/₀.

Le chiffre paraît même devoir être plus élevé si l'on s'adresse à des sujets sains (n^{os} 46, 47) vivant au contact de malades. Dans ces mêmes conditions, il a été signalé (FLUGGE, GÆRTNER) la présence d'une assez forte proportion de sujets porteurs de bacilles diphtériques, à la vérité à virulence souvent atténuée.

On peut formuler la proposition suivante :

Dans les résultats donnés comme positifs des examens bactériologiques de produits suspects de diphtérie, tels qu'ils sont faits habituellement dans les laboratoires, les bacilles pseudodiphtériques interviennent dans la proportion approximative de 16 à 17%.

Ces chiffres sont remarquablement élevés et méritent d'être pris en considération. Les travaux de Roux, Yersin, Hoffmann et de nombreux auteurs, ont appris que les bacilles pseudo-diphtériques existent fréquemment dans la gorge des personnes saines, mais on est moins renseigné sur leur fréquence dans les examens tels qu'ils sont habituellement pratiqués. Il est probable que leur nombre varie suivant les cas considérés et les milieux où l'on opère. Il serait intéressant, à ce sujet, de reprendre nos expériences, en

les étendant à un plus grand nombre de cas dans des régions très diverses.

Les bacilles inactifs ne présentent pas tous les mêmes caractères, et l'application des épreuves secondaires de différenciation permet de saisir entre eux certaines relations ou affinités. Voici résumés les principaux caractères rencontrés :

1^{re} Catégorie (nos 18, 31, 32, 44, 47)

Gram +, Grains de Neisser +, Acidité en bouillon pept. +, Glucose +, Lévulose +

2^e Catégorie (nos 9, 43)

Gram —, Grains de Neisser —, Acidité en bouillon pept. —, Glucose —, Lévulose —

3^e Catégorie (nos 2, 10, 11)

Gram $\pm$, Grains de Neisser $\pm$, Acidité en bouillon pept. $\pm$, Glucose $\pm$, Lévulose $\pm$

Les bacilles de la première catégorie ont satisfait à toutes les épreuves du *bacille diphtérique*, hormis la virulence.

Les bacilles de la seconde ne rappellent le Bacille de Loeffler que par la morphologie et doivent être identifiés au *Bacille d'Hoffmann*.

Entre ces deux types de bacilles, il existe toute une série de bacilles présentant tous les degrés intermédiaires (3^e catégorie). Faut-il considérer tous ces bacilles comme des espèces distinctes? Doit-on, au contraire, voir en eux des variétés d'une même espèce microbienne?

Pour l'École française, ces bacilles sont des diphtériques plus ou moins déchus (unicistes). Pour l'École allemande ce sont des germes à part n'ayant de commun avec le bacille diphtérique que leur ressemblance (dualistes).

Il est bon toutefois de remarquer, comme le disaient déjà Roux et Yersin en 1890, que la distinction nette que nous faisons entre les bacilles virulents et les non virulents est arbitraire. Si l'on pouvait expérimenter sur des animaux plus sensibles que le cobaye, il est, bien probablement, des bacilles classés comme pseudodiphtériques que nous rangerions parmi les virulents, et si, au contraire nous remplaçons, dans nos essais, les cobayes par les lapins, il est des bacilles diphtériques que nous appellerions pseudodiphtériques. Dans les expériences, on ne rencontre pas seulement un bacille très virulent et un bacille non virulent : entre ces deux extrêmes, il existe des bacilles à tous les degrés de virulence.

La conception dualiste a tous ces faits contre elle, et nous avons vu précédemment comment les expériences de Martin, Römer et Neisser avaient déjà reculé la limite de séparation entre diphtériques et pseudodiphtériques. Même en admettant les idées dualistes, il est probable que cette limite devra être définitivement élargie un jour et qu'on réunira au *bacille diphtérique* les bacilles qui en présentent aujourd'hui tous les caractères moins la virulence. On sait, en effet, que certains bacilles diphtériques authentiques peuvent perdre leur toxicité sans qu'on puisse arriver à la leur rendre et conservent cependant tous les caractères secondaires du bacille. On peut alors les homologuer aux bacilles inactifs de la première catégorie, et il est une dénomination, qui devrait leur être réservée, celle de *bacilles diphtéroïdes*.

La plupart des auteurs emploient indifféremment les termes *diphtéroïdes* et *pseudodiphtériques* pour désigner des bacilles avirulents. Il existe cependant de notables différences entre un bacille diphtérique avirulent (1^{re} catégorie) et un bacille d'Hoffmann (2^e catégorie). Sans doute on constate entre eux tous les intermédiaires (3^e catégorie), de même qu'on rencontre parmi les bacilles diphtériques tous les degrés de virulence, mais ne serait-il pas préférable, sans préjuger outre mesure de leur nature, de réserver aux seuls bacilles diphtériques avirulents le terme de *diphtéroïdes* et de distinguer les autres sous celui de *pseudodiphtériques* ? Ces désignations permettent de faire saisir de suite les caractères d'un bacille, et correspondent bien aux faits observés. Il convient toutefois de regretter l'emploi véritablement abusif, fait par certains auteurs, de la qualification générale de *bacilles pseudodiphtériques*, pour désigner des microbes qui n'ont que des rapports très éloignés avec le *bacille diphtérique* vrai, et ne lui ressemblent par exemple que par quelques particularités de coloration.

Quelles que soient les conceptions que l'on adopte au sujet de ces bacilles inactifs, on peut du moins conclure qu'avec nos moyens d'investigation actuels certains bacilles, catalogués diphtériques dans les examens habituels, ne méritent pas ce nom si on les soumet à l'épreuve de la virulence. En plus de l'intérêt qu'ils présentent au point de vue biologique, ils prêtent à certaines considérations d'ordre statistique et prophylactique, qu'il reste à envisager.

STATISTIQUE

Les bacilles avirulents, en présentant les mêmes aptitudes de culture et le même aspect que le Bacille de Loeffler, ne peuvent en être distingués dans les examens habituels. Ils sont confondus avec lui, puisqu'on ne peut songer, comme moyen d'identification, à pratiquer dans chaque cas l'inoculation au cobaye dont les résultats sont plus ou moins lointains. Il faut compter avec eux et apporter, dès lors, pour être aussi exact que possible, les corrections nécessaires au chiffre global des cas donnés comme positifs par l'analyse bactériologique.

Nous avons relevé à ce sujet le nombre d'analyses effectuées depuis l'année 1902, à l'Institut Sérothérapique de l'Est, par le service chargé de l'examen des produits suspects de diphtérie.

Année	1902	125 analyses	
—	1903	104	—
—	1904	43	—
—	1905	91	—
—	1906	56	—
—	1907	112	—
—	1908	152	—
—	1909	138	—
—	1910	162	—
—	1911	473	—
—	1912	384	—
—	1913	528	—

Sur un total de 2.368 analyses, la présence du bacille diphtérique a été constatée dans 40% des cas. Cette proportion élevée s'explique d'abord par la fréquence de la diphtérie dans la région lorraine, au climat particulièrement rigoureux, et où elle existe à l'état endémique en bien des endroits, mais il faut aussi en voir la raison dans la provenance de ces analyses : beaucoup concernent des malades atteints d'une manière plus ou moins avérée et déjà admis en traitement au Pavillon des Contagieux de l'Hôpital civil. En appliquant au nombre de ces cas donnés comme positifs les proportions relevées pour les bacilles pseudodiphtériques (16 à 17%), on voit que le pourcentage doit être sensiblement diminué.

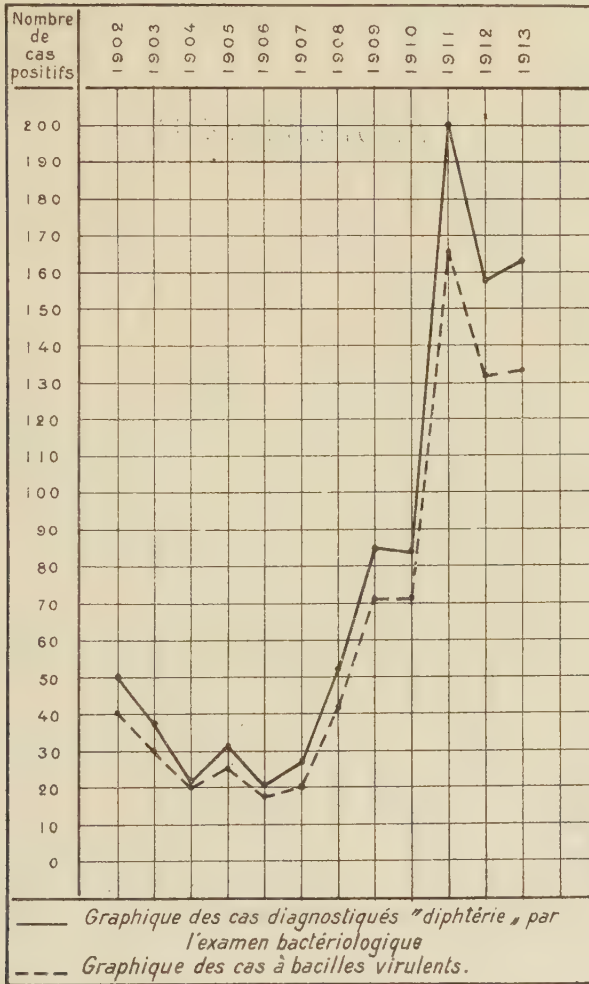
Dans les graphiques suivants nous avons figuré leur nombre par année, en montrant la correction qu'on doit y apporter.

Cette diminution conduit à *abaisser également le taux de la morbidité diphtérique* dans des proportions plus difficiles à déterminer (1/6^e environ), car on peut penser que les cas diagnostiqués bactériologiquement ne sont pas toujours déclarés.

Enfin, cette diminution évidente du taux de la morbidité entraîne par contre un *relèvement équivalent de celui de la mortalité dans la même proportion* (1/6^e environ).

Dans les différentes régions où existent des services spéciaux de bactériologie, il serait donc utile d'établir, en se basant sur un assez grand nombre d'analyses, la proportion, aussi exacte que possible, des bacilles pseudodiphtériques qui interviennent dans les exa-

mens, puisqu'elle permettrait une appréciation plus



judicieuse de ces deux facteurs importants, morbidité et mortalité diphtériques.

PROPHYLAXIE

Si la diphtérie était due à l'exaltation de germes ubiquitaires, tels que les bacilles pseudodiphtériques, il semblerait bien difficile de lutter efficacement contre la dissémination de tels microbes : ils sont en effet trop répandus, on ne pourrait songer à les atteindre tous.

Si, au contraire, les bacilles pseudodiphtériques sont des germes à part, tout à fait distincts du bacille spécifique et incapables de devenir virulents, ils n'ont aucune importance dans l'épidémiologie et la prophylaxie de la diphtérie.

Il faut reconnaître que jamais les conceptions unitaires ou dualistes n'ont justifié de pareilles déductions : des deux côtés on est unanime à considérer la diphtérie comme une maladie épidémique et contagieuse, due à l'action d'un microbe spécifique dont il faut combattre les effets et la dissémination par les moyens les plus efficaces.

C'est seulement vis-à-vis des bacilles pseudo-

diphtériques que certains ont pu croire inutile d'agir, et ils auraient certes raison si l'on pouvait affirmer qu'un bacille actuellement avirulent le restera par la suite.

Si, jusqu'à ce jour, on n'a jamais pu, dans les laboratoires, transformer un bacille pseudodiphtérique en bacille diphtérique, on sait du moins que certains germes diphtériques peuvent s'atténuer et perdre une grande partie de leur virulence pour la récupérer ultérieurement. Il est possible que, dans la nature, cette atténuation se fasse au maximum.

La présence particulièrement fréquente de bacilles diphtériques à virulence atténuée dans la gorge des personnes saines qui ont approché des malades atteints de diphtérie, comme l'ont montré les recherches de nombreux auteurs (1), autorise à penser que certains bacilles pseudodiphtériques peuvent être, suivant la conception formulée par Roux et Yersin, des bacilles diphtériques avirulents, sans qu'on puisse assurer qu'ils le resteront indéfiniment.

Ces faits commandent donc la plus grande circonspection et font malgré tout un devoir au médecin comme à l'hygiéniste de prendre contre les pseudodiphtériques au moins certaines mesures de précaution, surtout lorsqu'ils opèrent en milieu endémique ou épidémique.

Il est regrettable que, dans les examens habituels

(1) SACQUÉPÉE, Les Porteurs de germes (bacilles diphtériques) (*Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1910, t. VIII, p. 689).

où il faut donner une réponse le plus rapidement possible, le bactériologiste ne puisse dire au médecin si le germe diagnostiqué diphtérique est virulent ou avirulent. Le médecin a parfois des problèmes de prophylaxie très délicats à résoudre. Dans ce cas, qu'il s'agisse de porteur sain ou convalescent, *on pourrait alors rechercher la virulence des germes suspects. La présence de bacilles, qui se montreraient avirulents à la suite de plusieurs examens, permettrait de diminuer la rigueur des mesures prophylactiques, sans cependant supprimer toute précaution.* Il suffirait principalement de recommander à de tels porteurs de s'abstenir autant que possible de tout contact direct avec des enfants et de s'astreindre à certaines précautions faciles à prendre, comme la désinfection journalière de la gorge, susceptibles d'enrayer, dans une certaine mesure, la dissémination et le développement des microbes.

CONCLUSIONS

Le sérum coagulé est le meilleur milieu de culture pour l'isolement du bacille diphtérique, qui y pousse d'ordinaire en moins de 24 heures; toutefois, certains bacilles diphtériques authentiques (10%) ont sur ce milieu un développement retardé de 24 à 48 heures. Aussi, toute culture négative après 24 heures doit être remise à l'étuve, une réponse provisoire donnée, et examinée à nouveau, après 48 heures, pour réponse définitive.

L'aspect et l'abondance des colonies donnent des indications précieuses; leur examen, après coloration, permet à un œil exercé de saisir les caractères morphologiques essentiels du bacille, sur lesquels on base le diagnostic.

Les méthodes suivantes de différenciation du bacille diphtérique n'ont qu'une valeur très relative :

La méthode de Gram et celle de Gins donnent des résultats variables; certains bacilles diphtériques

authentiques prennent le Gram faiblement et irrégulièrement, et d'autres ne le prennent pas;

Les grains de Neisser manquent dans certaines formes courtes du bacille diphtérique et s'observent par contre dans certaines formes longues du bacille pseudodiphtérique;

L'acidification du bouillon peptoné et la fermentation des sucres par le bacille diphtérique sont parfois tardives et d'intensité peu appréciable.

En ayant recours à toutes ces épreuves pour la différenciation on retarde inutilement le diagnostic et on risque, par leur application rigoureuse, d'éliminer certains bacilles diphtériques authentiques mais atypiques.

La recherche de l'indol, par le procédé de Macé, plus sensible que celui d'Ehrlich, a toujours été négative avec des cultures de bacilles diphtériques âgées de 8 jours. Même en admettant que cette réaction puisse apparaître tardivement, elle perd toute valeur pour le diagnostic précoce.

L'inoculation au cobaye montre, dans nos expériences, que sur 100 bacilles diagnostiqués diphtériques dans les examens tels qu'ils sont pratiqués habituellement dans les laboratoires, il y en a 16 en moyenne (c'est-à-dire $1/6^e$ environ) qui sont avirulents et doivent être classés comme des bacilles pseudodiphtériques.

D'après cela, le taux de la morbidité diphtérique doit donc être abaissé d'un sixième, et celui de la mortalité diphtérique augmenté dans la même proportion.

L'importance des mesures prophylactiques ne doit être en rien diminuée par l'existence de ces bacilles pseudodiphtériques; il est permis, en effet, de penser que certains d'entre eux sont peut-être des bacilles diphtériques ayant perdu toute virulence mais alors susceptibles d'en récupérer sous des influences encore ignorées.

Toutefois, en présence de problèmes de prophylaxie délicats à résoudre, le médecin pourra demander que la recherche de la virulence soit effectuée.

La présence exclusive de bacilles avirulents dans plusieurs examens successifs permettrait alors de diminuer la rigueur des mesures prophylactiques.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOT (A. C.), The relations of the Pseudo-Diphteritis-Bacillus to the Diphteris-Bacillus (*Bull. of the Johns Hopkins Hospital*, vol. II, 1891, n° 15, 17; Ref. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XII, p. 797).
- BAGINSKY (A.), Diphterie und diphteritischer Krupp (*Spez. Pathol. u. Therap.*, Bd II, I. Teil, p. 63-91, herausgeg. v. Nothagel, Wien, 1898).
- BERGEY (D. H.), Comparative studies upon the pseudodiphteritic or Hoffmann-Bacillus, the Xerosis-Bacillus and the Loeffler-Bacillus (*Publicat. of the University of Pennsylvania*, New Series, n° 4, 1898).
- Bericht über die 7. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin (*Centralbl. f. Bakt.*, Bd LVII, 1913) (A consulter).
- BORNSTEIN, Der gegenwärtige Stand der Frage von Diphterie- und Pseudodiphterie-Bacillus (*Russ. Arch. f. Pathol.*, Bd XI, 1901).
- BRONSTEIN u. GRÜNBLATT, Zur Frage über Differenzierung der Diphterie und Pseudodiphterie-Bacillen (*Centralbl. f. Bakt.*, Abt. I, Orig., Bd XXXII, 1902, p. 425).
- CHATIN (P.), et LESIEUR (Ch.), De la présence du Bacille de Loeffler et du bacille pseudodiphtérique chez les enfants hospitalisés (*Rev. d'Hygiène*, t. XXII, 1900).
- COBBET (L.), a. PHILIPPS (G. C.), The pseudodiphteria-bacillus (*Journ. of. Pathol.*, vol. IV, 1897, p. 193).
- CONCETTI e MEMMO, Sulla tossicità del Bacillo di Loeffler in rapporto alla sua morfologia (*Annali d'Igiene speriment.*, vol. VIII, fasc. 1; Ref. Baumgarten, 1898, p. 303).
- DAVIS (L. D.), A bacillus resembling the diphteria-bacillus in all cultural characteristics but not producing diphteria toxin (*New York med. News*, vol. LXXIV, 1899, p. 520).
- ESCHERICH (Th.), Zur Frage des Pseudodiphteriebacillus und der diagnostischen Bedeutung des Loefflerschen Bacillus (*Berl. klin. Wochensch.*, 1893, p. 492).

- FRAENKEL (C.), Ueber das Vorkommen der Loefflerschen Diphteriebacillen (*Berl. klin. Wochensch.*, 1893, p. 252).
- ID., Zur Unterscheidung der echten und der falschen Diphteriebacillen (*Hyg. Rundsch.*, 1896, n° 20, p. 977; *Berl. klin. Wochensch.*, 1897, p. 1087).
- FRANKE (E.), Xerose-, Diphterie- und Pseudodiphterie-Bacillus (*Münch. med. Wochensch.*, 1898, p. 487).
- ID., Bemerkungen zu dem Aufsatz von Dr. F. Schanz « Ueber die Pathogenität des Loefflerschen Bacillus » (*Deutsch. med. Wochensch.*, 1898, p. 522).
- GORDON, Report on Bacillus diphteriæ and microorganisms liable to be confounded therewith (*The local government board*, 31^e rapport, p. 418).
- GERBER (P. H.) u. PODACK (W.), Ueber die Beziehungen der sogenannten Rhinitis fibrinosa und des sogenannten Pseudodiphteriebacillus zum Klebs-Loefflerschen Diphteriebacillus (*Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, Bd LIV, 1895, p. 262).
- GRANCHER, BOULLOCHE et BABONNEIX, *Nouveau Traité de Médecine*, t. IX, 1911, p. 118.
- GROMAKOWSKI (D.), Die differentielle Diagnose verschiedener Arten der Pseudodiphteriebacillen und ihr Verhalten zur Doppelfärbung nach M. Neisser (*Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXVIII, 1900, p. 136).
- HALLOCK, PARK a. BEEBE (A. L.), Diphteria and Pseudodiphteria (*Journ. of Laryngol., Otol. and Rhinol.*, 1894; Ref. *Deutsch. med. Wochenschr.*, 1894, n° 14).
- HEVOLETT a. KNIGHT (E.), On the so-called pseudodiphteria bacillus and its relation to the Klebs-Loeffler bacillus (*Transact. of the Brit. Instit. of Preventive Med.*, 1897, Serie I, p. 7; Ref. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXIII, p. 793).
- HINE, Biochemical reactions of diphteria-like organisms (*Journ. of Path. and Bact.*, t. XVII, 1913, p. 75).
- HOFFMANN-WELLENHOFF (G. V.), Untersuchungen über den Klebs-Loefflerschen Bacillus der Diphterie und seine pathogene Bedeutung (*Wiener med. Wochensch.*, 1888, p. 65).
- JANUSZEWSKA, Beitrag zur Differentialdiagnose zwischen Diphteriebacillen und Pseudodiphteriebacillen (*Dissert., Bern*, 1899).
- JOB, Bacilles diphtériques vrais et bacilles pseudodiphtériques (*Journ. de Physiol.*, XII, 1910, p. 220).
- KNAPP, The differentiation of Bacillus diphteriæ, Bacillus xerosis and Bacillus pseudodiphteriæ, by fermentation tests in the serum-water media of Hiss (*Journ. of medic. Research*, t. XII, 1904, p. 475-478).
- KOPLICK (H.), Forms of true diphteria, which simulate simple ca-

- tarrhal angina (*New York med. Journ.*, vol. II, 1892, p. 225 et *Arch. of Pediatrics*, 1892, p. 622).
- LAMBOTTE (U.), Les sensibilisatrices des bacilles diphtériques et pseudodiphtériques (*Centralbl. f. Bakt.*, 1902, Bd XXX, p. 817).
- LEMOINE (M.), Virulence du Bacille de Lœffler dans ses rapports avec les formes cliniques de la diphtérie (*Semaine médicale*, 1897, p. 249).
- LESIEUR (M. Ch.), Sur le diagnostic bactériologique de la diphtérie et sur la fréquence du bacille pseudodiphtérique (*Lyon médic.*, t. XCIV, 1900, p. 241).
- Id., De l'agglutination des bacilles dits « pseudodiphtériques » par le sérum antidiphtérique (*Ibid.*, p. 819).
- Id., *Les Baci les pseudodiphtériques*. Paris, 1902.
- LEWANDOWSKY (F.), Die Pseudodiphteriebacillen und ihre Beziehungen zu den Diphteriebacillen (*Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXXVI, 1904, p. 336 et 472). — *Bibliographie très complète* (A consulter).
- LÖFFLER (F.), Ergebnisse weiterer Untersuchungen über die Diphteriebacillen (*Centralbl. f. Bakt.*, Bd II, 1887, p. 105).
- LUBOWSKI (R.), Ueber einen atavischen und avirulenten Diphterie-stamm und über die Agglutination des Diphteriebacillus (*Zeitsch. f. Hyg.*, Bd XXXV, 1900, p. 87).
- MACÉ (E.), *Traité pratique de Bactériologie* (t. I, 1912, p. 823-894; t. II, 1913, p. 809).
- MADSEN, La constitution du poison diphtérique (*Ann. Inst. Pasteur*, t. XIII, 1899, p. 569 et 801).
- MARTIN (L.), Examen clinique et bactériologique de deux cents enfants, entrés au pavillon de la diphtérie (*Ann. Inst. Pasteur*, t. VI, 1892, p. 325).
- MEUNIER (M.), Les notions nouvelles sur la diphtérie au Congrès de microbiologie de Berlin (*Rev. d'Hygiène*, t. XXXV, 1913, p. 1229).
- Id., Nouvelles recherches sur les bacilles diphtériques vrais et les bacilles pseudodiphtériques (*Bull. Acad. Méd. Belgique*, 31 mai 1913).
- MORSE, The application of the complement-fixation reaction to the diphteria group of organisms (*Journ. of inf. dis.*, t. XI, 1912, p. 433).
- NEISSER (M.), Zur Differentialdiagnose des Diphteriebacillus (*Zeitsch. f. Hyg.*, Bd XXIV, 1897, p. 443).
- Id., Bakteriologie der Diphterie (*Centralbl. f. Bakt.*, Bd LVII, 1913, p. 1).
- NEUMANN (R. O.), Bakteriologische Untersuchungen gesunder und kranker Nasen, mit besonderer Berücksichtigung des Pseudodiphteriebacillus (*Zeitsch. f. Hyg.*, Bd XL, 1902).
- NICOLAS, L'agglutination du Bacille de Lœffler par le sérum antidiphtérique est-elle constante? (*Bull. Soc. Biologie*, 1898).
- PALMIRSKI et ORLOWSKI, Ueber die Indolreaction in Diphteriebouillonkulturen (*Centralbl. f. Bakt.*, Bd XVII, 1895, p. 358).

- PETERS (E. A.), Diphteria and pseudo-diphteria bacilli (*Pathol. Soc. Transact.*, vol. XLVII, 1896, p. 395; *Journ. of Pathol.*, vol. IV, p. 181).
- ID., The varieties of diphteria bacilli (*Lancet*, Déc. 21, 1895; Ref. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XIX, p. 615).
- PREISZ (H.), Diphteritis es pseudodiphteritis bacillusok (*Orvosi Hirlap.*, 1893, n° 8; Ref. Baumgarten, 1893).
- PROCHASKA, Die Pseudodiphteriebacillen des Rachens (*Zeitsch. f. Hyg.*, Bd XXIV, 1897, p. 373).
- RÖMER, Ueber den Nachweis sehr kleinen Mengen des Diphteriegiftes (*Zeitsch. f. Immunität*, I, Orig., t. III, 1909).
- ROTHE, Beitrag zur Differenzierung der Diphteriebacillen (*Centralbl. f. Bakt.*, I, Orig., t. XLIV, 1907, p. 618).
- ROUSSEL et MALARD, Bacilles diphtériques et bacilles pseudodiphtériques (*Rev. d'Hygiène*, XXXII, 1910, p. 1060).
- ROUX (E.) et YERSIN (A.), Contribution à l'étude de la diphtérie (3^e mémoire) (*Ann. Inst. Pasteur*, 1890, p. 385).
- SACQUÉPÉE, Les porteurs de germes (Bacilles diphtériques) (*Bull. Inst. Pasteur*, t. VIII, 1910, p. 689). — *Revue générale* (A consulter).
- SALTER (A.), The pathogenity of the pseudo-diphteria bacillus and its relatio to the Klebs-Löffler organism (*Transact. of the Jenner Inst.*, Series, 1899, p. 113).
- SCHAFFAD (J. A.), Zur Frage der Differentialdiagnose des Diphteriebacillus und des Pseudodiphteriebacillus (*Wratsch*, 1901, n° 26; Ref. Baumgarten, 1901).
- SCHANZ (F.), Zur Differentialdiagnose des Diphteriebacillus (*Berl. klin. Wochensch.*, 1897, p. 1092).
- ID., Die falschen und echten Diphteriebacillen (*Wien. med. Presse*, 1898, n° 28).
- ID., Zu Behrings neuester Diphterietheorie (*Münch. med. Wochensch.*, 1902, p. 64).
- SCHLICK, Spezifische Therapie der Diphterie (*Centralbl. f. Bakt.*, 14 juin 1913, p. 16).
- SCHWONER, Ueber Differenzierung der Diphteriebacillen von den Pseudodiphteriebacillen (*Versamml. deutscher Naturforscher u. Aerzte in Karlsbad*, 1902; Ref. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXXII, Referate, 1902, p. 646).
- SMITH (T.), Degrees of susceptibility to diphteria toxin among guinea-pigs (*Journ. of med. Research*, t. XIII, 1905, f. 3).
- SPRONCK (C. H. H.), Le diagnostic bactériologique de la diphtérie contrôlé par le sérum antidiphtérique (*Semaine médicale*, 1896, p. 317).
- ID., Ueber die vermeintlichen « schwach virulenten Diphteriebacillen » des Konjonktivsackes und die Differenzierung derselben von dem echten Diphterie-Bacillus mittels des Behringschen Heilserums (*Deutsch. med. Wochensch.*, 1896, p. 571).

SPRONCK (C. H. H.) Le diagnostic de la diphtérie et les difficultés causées par les bacilles pseudodiphtériques (*Semaine médicale*, 1897, p. 353).

STRASSBURGER (J.), Ueber die Virulenz der Diphterie in Bonn (*Zeitsch. f. Hyg.*, Bd XXV, 1897, p. 389).

TRAUTMANN U. GAERTGENS, Einige schwebende Fragen der bakteriologischen Diphteriediagnose (*Centralbl. f. Bakt.*, 1913, p. 61).

USTVEDT (Y.), Deu bakteriologiske diphteridiagnose og pseudodiphteribacillen (*Norsk Magazin for Laegevidenskaben*, Bd XIV, 1899, p. 681; Ref. Baumgarten, 1899, p. 771).

DELLA VEDOVA, La diagnosi differenziale fra il bacillo di Loeffler ed il simili (*Gazz. d'Ospedali*, 1898, 14 agosto; Ref. Baumgarten, 1898, p. 253).

WALKER, Further observations on the Variability of Streptococci in relation to certain Fermentation Tests, together with some Considerations Bearing on its Possible Meaning (*Proc. R. Soc. B.*, 1913, t. LXXXV).

ZINSSER, A study of the diphteria group of organisms; with special reference to fermentation reactions (*Journ. of med. Research*, t. XVII, 1907, p. 277-291).

ZUPNICK (L.), Ueber Variabilität der Diphteriebacillen (*Berlin. klin. Wochensch.*, 1897, p. 1085).

VU :

Nancy, le 20 janvier 1914.

Le Président de la thèse,

MACÉ.

VU :

Nancy, le 20 janvier 1914.

Le Doyen,

MEYER.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 21 janvier 1914.

Le Recteur de l'Académie.

CH. ADAM,

Correspondant de l'Institut.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
Introduction	7
Technique	12
Considérations générales	24
Virulence des bacilles diagnostiqués diphtériques dans les examens habituels	37
Statistique	47
Prophylaxie	50
Conclusions	53
BIBLIOGRAPHIE	57

—
NANCY-PARIS, IMPRIMERIE BERGER-LEVRAULT
—

